3 月 March
2019, 62(3): 381 – 390
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http: // www. insect. org. cn
doi: 10. 16380/j. kcxb. 2019. 03. 012

基于微卫星标记的中国枣食芽象甲地理种群遗传多样性分析

洪 波[1,2], 张 锋[2], 陈志杰[2], 罗 坤[1], 赵惠燕[1,*]

(1. 西北农林科技大学植物保护学院, 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西杨凌 712100;
2. 陕西省生物农业研究所, 西安 710043)

摘要: 【目的】枣食芽象甲 *Scythropus yasumatsui* 是我国北方枣树 *Zizyphus jujuba* 上的一种重要的灾害性害虫,在陕西、山西、河北、河南等枣树主产区普遍发生。本研究旨在揭示我国枣食芽象甲不同种群间的遗传分化和基因交流规律。【方法】利用枣食芽象甲转录组测序的 SSR 序列,使用荧光标记 PCR 及毛细管电泳分型方法,筛选出 8 个微卫星位点,对我国 5 个省份(山西、陕西、宁夏、河北和河南)10 个地理种群共 308 头枣食芽象甲样本进行种群遗传多样性分析。【结果】8 个 SSR 位点均存在无效等位基因且偏离哈迪-温伯格平衡。各位点的有效等位基因数(*Ne*)为 2.113 ~ 8.016,多态信息含量(*PIC*)为 0.561 ~ 0.908,期望杂合度(*He*)为 0.476 ~ 0.865;种群间遗传分化系数(*Fst*)平均值为 0.151;基因流(*Nm*)平均值为 1.594。枣食芽象甲种群间遗传分化系数与地理距离之间显著正相关($r = 0.596$, $P = 0.0035$),基于 Nei's 遗传距离和 Cavalli-Sforza & Edwards 余弦遗传距离的系统进化树将 10 个地理种群均聚为 3 个相同的分支。【结论】结果说明,枣食芽象甲种群遗传多样性较高,不同地理种群间存在高度的遗传分化,且有一定的基因交流;地理隔离是影响枣食芽象甲地理种群遗传分化和基因交流的重要因素。

关键词: 枣食芽象甲; 遗传多样性; 微卫星位点; 转录组; 遗传距离; 基因流

中图分类号: Q969.94　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 0454-6296(2019)03-0381-10

Analysis of the genetic diversity of *Scythropus yasumatsui* (Coleoptera: Curculionidae) populations in China based on microsatellite markers

HONG Bo[1,2], ZHANG Feng[2], CHEN Zhi-Jie[2], LUO Kun[1], ZHAO Hui-Yan[1,*] (1. State Key Laboratory of Crop Stress Biology in Arid Areas, College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Bio-Agriculture Institute of Shaanxi, Xi'an 710043, China)

Abstract: 【Aim】*Scythropus yasumatsui*, a major pest of Chinese jujube (*Zizyphus jujuba*) trees in northern China, is widely distributed in the main producing areas of jujube in provinces including Shaanxi, Shanxi, Hebei and Henan in China. This study aims to elucidate the genetic differentiation and gene exchange among *S. yasumatsui* populations in China. 【Methods】Based on simple sequence repeats (SSRs) from the previously established transcriptome database, eight SSR loci were screened by PCR with fluorescence labeling and capillary electrophoresis genotyping, and the population genetic diversity was analyzed based on 308 individuals of 10 geographic populations of *S. yasumatsui* from five provinces (Shanxi, Shaanxi, Ningxia, Hebei and Henan). 【Results】All of the eight microsatellite loci had null alleles and deviated from Hardy-Weinberg equilibrium. Among the loci, the effective number of alleles (*Ne*) ranged from 2.113 to 8.016, the polymorphic information content (*PIC*) ranged from 0.561 to

基金项目: 陕西省科技统筹创新工程项目(2013KTZB-03-01); 陕西省科学院重大科技项目(2013K-02)
作者简介: 洪波, 男, 1982 年 5 月生, 河南新乡人, 博士研究生, 研究方向为农林害虫监测预警技术, E-mail: hb54829@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhaohy@nwsuaf.edu.cn
收稿日期 Received: 2018-09-05; 接受日期 Accepted: 2019-01-19

0.908, and the expected heterozygosity (*He*) was between 0.476 and 0.865. The average index of genetic differentiation (*Fst*) among populations was 0.151, and the average gene flow (*Nm*) was 1.594. There was a significantly positive correlation between the genetic differentiation index and the geographic distance among different populations of *S. yasumatsui* ($r = 0.596$, $P = 0.0035$), and the phylogenetic trees based on Nei's genetic distance and Cavalli-Sforza & Edwards genetic distance revealed that the 10 populations were all clustered into the three identical branches.【Conclusion】The results suggest that *S. yasumatsui* populations have a high level of genetic diversity, and there are a high genetic differentiation and a certain gene flow among different geographic populations. Geographic division is a critical factor which affects the genetic differentiation and gene exchange among *S. yasumatsui* populations.

Key words: *Scythropus yasumatsui*; genetic diversity; microsatellite loci; transcriptome; genetic distance; gene flow

枣食芽象甲 *Scythropus yasumatsui* 又名枣飞象，属鞘翅目(Coleoptera)象甲科(Curculionidae)，是我国枣树 *Zizyphus jujuba* 上一种重要的灾害性害虫。该虫 1977 年首次在我国河南濮阳、新郑等地区被报道(高犁牛等, 1977)，目前在我国北方红枣产区普遍发生，以陕西、山西、河南、河北、甘肃、宁夏等省为害较重(贾增波等, 1991; 黄维正和李东成, 1993; 胡维平和梁廷康, 2008; 张泽勇和闫春艳, 2011; 唐学亮等, 2013; 张华普等, 2015)，尤其在陕西和山西北部黄河沿岸枣区种群密度很高，连年暴发成灾(李文爱等, 2007)。枣食芽象甲在我国一年发生 1 代，每年 4 月上旬成虫羽化出土危害。4 月中下旬到 5 月上旬为该虫发生高峰期，成虫上树啃食枣芽和嫩叶，严重时可将嫩芽全部吃光，造成枣树二次萌芽并延迟开花，导致红枣大幅减产及品质下降，给当地的枣果生产造成巨大经济损失(杜仙当, 2007; 王妍妍等, 2011)。目前对于该虫的研究主要集中在其生活史和生物学特性(贾增波等, 1991; 刘光生, 1991)、化学生态学(阎雄飞和李善才, 2012; 王晶玲等, 2017)、种群动态和发生规律(王晶, 2016; 洪波等, 2017)等方面。

微卫星又称简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)，通常以 1~6 个碱基对为核心单元组成的串联重复序列，是一类共显性 DNA 分子标记，由于其具有多态性高、数量多、在基因组中分布广泛等特点(Jarne and Lagoda, 1996; Powell *et al*., 1996)，目前普遍应用于昆虫学研究，特别是农林害虫的种群遗传学研究。在林业害虫方面，近年来国内已有学者利用微卫星标记对桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (李伟丰等, 2007)、苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (门秋雷等, 2012)、梨小食心虫 *Grapholita molesta* (郑燕等, 2014)、苹果小吉丁虫 *Agrilus mali* (房冰等, 2017)等重大果树害虫的地理种群遗传多样性和遗传结构分析的研究报道，这些研究大都利用同种或近源种已有的微卫星引物，通过 PCR 扩增筛选微卫星位点进行验证和分析。

枣食芽象甲作为一种我国本土的林业果树害虫，在国外尚未见相关研究报道，仅有象甲科近源种南美果树象甲 *Naupactus xanthographus* 微卫星位点的开发研究(Guzmán *et al*., 2013)。在国内，利用微卫星分子标记对枣食芽象甲进行种群遗传分析的研究未见涉及，该物种的微卫星引物和序列也未有公布。因此，本研究利用课题组前期从枣食芽象甲成虫转录组测序得到的 SSR 序列，使用荧光标记 PCR 技术，筛选出适合枣食芽象甲种群遗传学研究的 8 个微卫星位点，对我国枣食芽象甲 10 个地理种群的遗传多样性进行分析，探索其种群遗传分化与基因交流的规律，为进一步开展枣食芽象甲种群传播与扩散的研究及综合防治策略的制定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

于 2017 年 4-5 月枣食芽象甲发生期，分别在我国山西、陕西、宁夏、河北和河南 5 个省份 10 个地区的枣园采集枣食芽象甲成虫，每个地区采集成虫 30 头左右，且每两头成虫的间隔距离 30 m 以上，尽可能保证所采集的每个试虫样本都来源于不同亲本。每个地区采集的试虫视为一个种群，共 10 个地理种群 308 头试虫。采集地点使用手持 GPS 定位，采集信息如表 1 所示。将采集到的成虫置于无水乙醇中，带回实验室在 -20℃ 冰箱保存备用。

表 1　枣食芽象甲成虫采集信息

Table 1　Sampling information of *Scythropus yasumatsui* adults in China

种群代码 Population code	采集地点 Sampling location	地理坐标 Geographic coordinates	海拔(m) Altitude	采集时间 Sampling date	样本数 Number of samples
SXLL	山西吕梁柳林 Liulin, Lüliang, Shanxi	110.775°E, 37.465°N	695.0	2017.5.10	30
SXYH	山西临汾永和 Yonghe, Linfen, Shanxi	110.523°E, 36.575°N	709.0	2017.5.8	32
SNSM	陕西榆林神木 Shenmu, Yulin, Shaanxi	110.662°E, 38.346°N	885.0	2017.5.12	28
SNJX	陕西榆林佳县 Jiaxian, Yulin, Shaanxi	110.352°E, 38.004°N	742.0	2017.5.11	33
SNYC	陕西延安延川 Yanchuan, Yan'an, Shaanxi	110.355°E, 36.841°N	617.0	2017.5.9	34
SNYL	陕西西安阎良 Yanliang, Xi'an, Shaanxi	109.332°E, 34.668°N	369.0	2017.4.17	30
NXTX	宁夏吴忠同心 Tongxin, Wuzhong, Ningxia	106.023°E, 36.881°N	1 378.0	2017.5.14	33
HBCX	河北沧州沧县 Cangxian, Cangzhou, Hebei	116.558°E, 38.243°N	7.0	2017.4.26	30
HNLB	河南三门峡灵宝 Lingbao, Sanmenxia, Henan	110.936°E, 34.705°N	360.0	2017.4.28	28
HNXZ	河南郑州新郑 Xinzheng, Zhengzhou, Henan	113.812°E, 34.559°N	167.0	2017.4.27	30

1.2　试剂和仪器

血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒(天根)、2 × Taq MasterMix(康为世纪)、核酸测定仪(SimpliNano,美国 GE)、PCR 仪(Easy Gradient 96 Cycler,德国耶拿)、电泳仪(DYCP-31DN,北京六一)、自动凝胶成像仪(ChampGel 5000,北京赛智创业)、DNA 测序仪(ABI3730xl,美国 Applied Biosystems)、TGrinder 电动组织研磨器(OSE-Y30,天根)。

1.3　食芽象甲基因组 DNA 提取

将单头成虫置于1.5 mL 离心管中,使用电动组织研磨器将试虫研磨均匀,然后按照 DNA 提取试剂盒的说明书方法,提取枣食芽象甲各头试虫的基因组 DNA 后,在核酸测定仪下测量各试虫 DNA 样品的浓度和吸光度值,将浓度值大于 50 ng/μL, A_{260}/A_{280}值为 1.8 ~ 2.0 的样品存于 -20℃冰箱备用。

1.4　微卫星引物筛选

本研究根据陕西省生物农业研究所有害生物监测与防控中心实验室枣食芽象甲成虫转录组测序得到的 SSR 序列,使用 Primer Premier 5.0 软件设计引物 40 对并进行 PCR 扩增,筛选特异性引物,然后在 6% 非变性聚丙烯酰胺电泳下检测扩增片段与目的片段大小差异,最后将 PCR 产物纯化后进行 T 载体连接转化,送北京奥科鼎盛生物科技有限公司测序验证是否为目的产物,筛选出最终的微卫星引物。

PCR 反应体系(20 μL):2 × Taq MasterMix 10 μL, 正反向引物(10 μmol/L)各 1 μL,基因组 DNA (50 ~ 100 ng/μL)1 μL, ddH_2O 补足至 20 μL。PCR 反应条件:94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 35 个循环; 72℃ 5 min。

1.5　荧光标记引物合成及 PCR

荧光标记引物参照 Schuelke(2000)和段辛乐(2015)的方法,使用 3 条引物进行扩增。第 1 条引物为 M13(-21)正向引物(5′-TGTAAAACGACGGCCAGT-3′)加各位点的正向引物(F)组成的引物 M13-F;第 2 条引物为各位点的反向引物 R(表 2);第 3 条为 5′带羧基荧光素(FAM)标记的 M13(-21)正向引物 FAM-M13(FAM-5′-TGTAAAACGACGGCCAGT-3′)。各引物均由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。

荧光标记 PCR 反应参照李梅梅等(2018)的方法并进行改动,反应体系(20 μL):M13-F(10 μmol/L)0.4 μL, R(10 μmol/L)和 FAM-M13 各 1.6 μL, 2 × Taq MasterMix 10 μL, 基因组 DNA 1.2 μL, ddH_2O 补足至 20 μL。PCR 反应条件分两步:(1) 94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 表 2 中各引物退火温度 30 s, 72℃ 30 s, 共 35 个循环; (2) 94℃ 30 s, 53℃ 45 s, 72℃ 45 s, 共 10 个循环;最后 72℃ 10 min。

1.6　毛细管电泳基因分型

1.5 节扩增的 PCR 产物使用 DNA 测序仪进行毛细管电泳,对枣食芽象甲个体分型得到的结果用 GeneMapper 4.0 软件分析,判定微卫星等位基因的基因型。毛细管电泳和基因分型检测在西安擎科泽西生物科技有限公司进行。

1.7　数据分析

首先将基因分型数据按照种群和位点顺序整理到 Excel 中,然后使用 Microsatellite Toolkit v3.1.1 (http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit)和 CONVERT 1.31(Glaubitz, 2004)转换成各种分析软件要求的数据格式文件。

用 GenePop 4.7(Rousset, 2008)对各种群在各位点上的哈迪-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium) *P* 值进行无偏估测和连锁不平衡检测。利用 FreeNA(Chapuis and Estoup, 2007)计算各位

点的无效等位基因频率(P_N),用 Microsatellite Toolkit v3.1.1 计算各位点的多态信息含量(*PIC*)。

使用 Popgene1.32(https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html)计算各地理种群及各位点的等位基因数(*Na*)、有效等位基因数(*Ne*)、Shannon 指数(*I*)、观察杂合度(*Ho*)和期望杂合度(*He*)。

使用 Arlequin3.5.2.2(Excoffier and Lischer, 2010)进行 *F*-统计量(Wright, 1951)分析,计算种群内近交系数(*Fis*)、种群总近交系数(*Fit*)、种群间遗传分化系数(*Fst*)和基因流[$Nm = (1 - Fst)/4Fst$]。用 Google Earth 7.1.8 软件测算各地理种群之间的地理距离,并用 TFPGA1.3(Miller, 1997)分析成对的种群间遗传分化系数[$Fst/(1 - Fst)$]矩阵与地理距离矩阵之间的相关性。

用 Microsatellite Analyser (MSA) 3.15 (Dieringer and Schlötterer, 2003)计算各种群之间的 Nei's 遗传距离(*Dn*)(Nei, 1978)和 Cavalli-Sforza & Edwards 余弦遗传距离(*Dc*),基于上述 2 种遗传距离,使用 MEGA6.0 中的非加权组平均聚类法(unweighted pair-group method with arithmetic mean, UPGMA)和邻接法(neighbor-joining, NJ)分别构建不同地理种群间的系统进化树。

2 结果

2.1 枣食芽象甲 SSR 位点的筛选

在 40 对微卫星引物中,通过水平电泳检测出可稳定扩增的特异性引物后,经 6% 非变性聚丙烯酰胺电泳(PAGE)检测,筛选出与目的片段大小相近的扩增产物,然后进行 T 载体连接转化并测序验证,最终筛选出 8 对引物及对应的 SSR 位点,用于枣食芽象甲种群遗传多样性分析(表 2)。

表 2 枣食芽象甲微卫星引物序列及微卫星位点特性

Table 2 Characteristics of microsatellite loci and primer sequences in *Scythropus yasumatsui*

位点(GenBank 登录号) Loci (GenBank ID)	引物序列(5′-3′) Primer sequences	重复基序 Repeat motif	退火温度(℃) Annealing temperature	产物大小(bp) Product size
SyL20(MH771015)	F: AATATCGCCAAGGGATCATAC	$(ACC)_7$	58	122
	R: GTGCCATAAGAAGCAATAGGTC			
SyL06(MH771016)	F: ATTGGCACAGGGCAGCA	$(TA)_{10}$	62	192
	R: GGCAAGTAGGCAGTGACGAT			
SyL14(MH771017)	F: AGAACTTATGGGCTTGACCG	$(GAG)_{11}$	59	206
	R: GGGCTATCGTTTCTACCTCC			
SyL13(MH771018)	F: CTGTTCGTTTTCGGAGATTG	$(TG)_{14}$	58	184
	R: CCGTAATAATGGATGGGTTT			
SyL15(MH771019)	F: TACCTAAGAGGCACCATAAATA	$(CT)_{10}$	55	168
	R: TTGTTAGTTACTTGGCGGATA			
SyL08(MH771020)	F: CGCCTAAATCACTCCCTCC	$(GCC)_7$	59	212
	R: TCTTCTGGCAATCTCCTGTTC			
SyL16(MH771021)	F: GGTAAGCTGTTTAAGCCTCG	$(AT)_6G(TA)_7$	58	135
	R: CCTCCCGTAGACCAAAGAAT			
SyL04(MH771022)	F: CTCAACAATCGTCCTCATCG	$(AAG)_6$	59	295
	R: TCGTCGCTTTCCAAACACTA			

2.2 哈迪-温伯格平衡和连锁不平衡检测

使用 GenePop 4.7 软件按照杂合子缺失和杂合子过剩分别进行哈迪-温伯格平衡正合检验(exact test),结果如表 3 所示,除陕西阎良(SNYL)种群在 SyL20 位点以及陕西延川(SNYC)种群在 SyL06 位点外,其余各种群在上述两个位点均偏离 Hardy-Weinberg 平衡;山西永和(SXYH)种群除 SyL14 位点,以及河南灵宝(HNLB)种群除 SyL15 和 SyL16 位点外,这两个种群在其他位点均偏离 Hardy-Weinberg 平衡,且偏离平衡的种群都表现为杂合子缺失。8 个 SSR 位点的基因型连锁不平衡检测结果如表 4 所示,所有成对位点没有出现连锁不平衡的情况,为完全独立遗传。

表 3　枣食芽象甲地理种群在 8 个 SSR 位点的哈迪-温伯格平衡分析

Table 3　Analysis of Hardy-Weinberg equilibrium at eight SSR loci among different populations of *Scythropus yasumatsui*

位点 Loci	种群代码 Population code									
	SXLL	SXYH	SNSM	SNJX	SNYL	SNYC	HBCX	NXTX	HNLB	HNXZ
SyL20	0.0008 **	0.0007 **	0.0004 **	0.0330 *	0.0651	0.0060 **	0.0004 **	0.0213 *	0.0148 *	0.0005 **
SyL06	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **	0.0000 **	0.1486	0.0000 **	0.0002 **	0.0000 **	0.0000 **
SyL14	0.0155 *	0.2827	0.4100	0.2472	0.0198 *	0.0632	0.2845	0.0586	0.0481 *	0.4499
SyL13	0.0000 **	0.0000 **	0.0034 **	0.7396	0.2413	0.0000 **	0.0000 **	0.5540	0.0379 *	0.9559
SyL15	0.6379	0.0282 *	0.7865	0.0697	0.7009	0.1024	0.0000 **	0.1447	0.1182	0.0244 *
SyL08	0.3711	0.0397 *	0.7517	0.6325	0.0780	0.2613	0.0573	0.1262	0.0213 *	0.6522
SyL16	0.0006 **	0.0000 **	0.0045 **	0.0009 **	1.0000	0.0550	0.0008 **	0.0053 **	0.2082	0.0526
SyL04	0.4263	0.0031 **	0.0667	0.0002 **	0.0173 *	0.3173	0.0024 **	0.9963	0.0148 *	0.0231 *

种群代码见表 1。星号表示显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.05$)；双星号表示极显著偏离哈迪-温伯格平衡($P<0.01$)。For population codes, see Table 1. The asterisk shows significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.05$), while double asterisk shows extremely significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.01$).

表 4　枣食芽象甲地理种群在各成对位点间的基因型连锁不平衡分析

Table 4　Analysis of linkage disequilibrium at pairwise loci among populations of *Scythropus yasumatsui*

成对位点 Pairwise loci	卡方值 χ^2	自由度 *df*	*P* 值 *P* value	成对位点 Pairwise loci	卡方值 χ^2	自由度 *df*	*P* 值 *P* value
SyL20&SyL06	9.135	20	0.981	SyL15&SyL08	26.082	20	0.163
SyL20&SyL14	13.424	20	0.858	SyL20&SyL16	24.549	20	0.219
SyL06&SyL14	11.745	20	0.925	SyL06&SyL16	27.945	20	0.111
SyL20&SyL13	13.184	20	0.869	SyL14&SyL16	23.141	20	0.282
SyL06&SyL13	3.908	20	1.000	SyL13&SyL16	7.354	20	0.995
SyL14&SyL13	13.641	20	0.848	SyL15&SyL16	10.882	20	0.949
SyL20&SyL15	12.825	20	0.885	SyL08&SyL16	19.540	20	0.487
SyL06&SyL15	19.613	20	0.482	SyL20&SyL04	6.380	20	0.998
SyL14&SyL15	9.729	20	0.973	SyL06&SyL04	16.165	20	0.706
SyL13&SyL15	27.756	20	0.115	SyL14&SyL04	12.681	20	0.891
SyL20&SyL08	15.538	20	0.745	SyL13&SyL04	9.169	20	0.981
SyL06&SyL08	22.998	20	0.289	SyL15&SyL04	17.519	20	0.619
SyL14&SyL08	12.095	20	0.913	SyL08&SyL04	12.039	20	0.915
SyL13&SyL08	19.657	20	0.480	SyL16&SyL04	23.015	20	0.288

2.3　枣食芽象甲不同地理种群在 8 个 SSR 位点的无效等位基因频率

利用 FreeNA 软件分析了 8 个 SSR 位点的无效等位基因频率(P_N)(表 5)，各位点都存在无效等位基因，频率介于 0.041 ~ 0.196 之间，SyL06 位点的无效等位基因频率最高，为 0.196，SyL20 位点次之，SyL14 的无效等位基因频率最低，为 0.041。

2.4　枣食芽象甲不同地理种群在 8 个 SSR 位点上的遗传多样性分析

枣食芽象甲在 8 个 SSR 位点的遗传多样性结果如表 5 所示，各位点的等位基因数(*Na*)在 3.5 ~ 13.5 之间，有效等位基因数(*Ne*)在 2.113 ~ 8.016 之间，SyL20 位点的 *Na* 和 *Ne* 值分别为 3.5 和 2.113，在所有位点中均为最低，SyL13 位点最高；Shannon's 指数(*I*)为 0.826 ~ 2.218，平均值为 1.489；观察杂合度(*Ho*)为 0.238 ~ 0.746，平均值为 0.540，期望杂合度(*He*)为 0.476 ~ 0.865，平均值为 0.691，各位点的观察杂合度均低于期望杂合度。各位点的多态信息含量(*PIC*)为 0.561 ~ 0.908，平均值为 0.770。

10 个枣食芽象甲种群的遗传多样性结果见表 6，各种群的多态性位点数均为 8 个，多态性位点百分比为 100%。等位基因数(*Na*)为 4.125 ~ 9.375，有效等位基因数(*Ne*)为 1.881 ~ 5.629，Shannon's 指数(*I*)为 0.766 ~ 1.818；观察杂合度(*Ho*)为 0.354 ~ 0.635，期望杂合度(*He*)为 0.414 ~ 0.790，各地理种群的观察杂合度均低于期望杂合度，说明种群内的个体存在近交。宁夏同心(NXTX)种群的

Na, *Ne*, *I*, *Ho* 和 *He* 分别为 4.125, 1.881, 0.766, 0.354 和 0.414,均为所有种群中最低值,山西柳林(SXLL)种群的 *Na*, *Ne*, *I*, *Ho* 和 *He* 分别为 9.375, 5.629, 1.818, 0.635 和 0.790,为所有种群中最高,表明在这 10 个地理种群中,山西柳林种群的遗传多样性最高,而宁夏同心种群最低。

表 5 枣食芽象甲在 8 个微卫星位点上的遗传多样性分析
Table 5 Analysis of genetic diversity at eight SSR loci of *Scythropus yasumatsui*

位点 Loci	*Na*	*Ne*	*I*	*Ho*	*He*	*PIC*	P_N
SyL20	3.5	2.113	0.826	0.238	0.476	0.561	0.168
SyL06	8.6	4.789	1.727	0.413	0.772	0.847	0.196
SyL14	8.6	4.523	1.662	0.675	0.752	0.868	0.041
SyL13	13.5	8.016	2.218	0.746	0.865	0.908	0.064
SyL15	9.0	4.632	1.653	0.658	0.728	0.852	0.045
SyL08	5.0	2.537	1.063	0.492	0.551	0.620	0.046
SyL16	5.5	3.021	1.237	0.471	0.636	0.698	0.104
SyL04	6.6	4.080	1.528	0.629	0.746	0.803	0.081
平均值 Mean	7.563	4.214	1.489	0.540	0.691	0.770	0.094

Na: 等位基因数 Number of alleles; *Ne*: 有效等位基因数 Effective number of alleles; *I*: Shannon's 指数 Shannon's index; *Ho*: 观察杂合度 Observed heterozygosity; *He*: 期望杂合度 Expected heterozygosity; *PIC*: 多态信息含量 Polymorphic information content; P_N: 无效等位基因频率 Frequency of null alleles.

表 6 枣食芽象甲 10 个地理种群的遗传多样性分析
Table 6 Analysis of genetic diversity in ten populations of *Scythropus yasumatsui*

种群代码 Population code	*Na*	*Ne*	*I*	*Ho*	*He*	*N*	*P*
SXLL	9.375	5.629	1.818	0.635	0.790	8	100
SXYH	8.625	5.083	1.704	0.547	0.751	8	100
SNSM	7.625	4.795	1.620	0.635	0.723	8	100
SNJX	9.125	4.982	1.758	0.609	0.761	8	100
SNYL	7.625	4.078	1.387	0.531	0.609	8	100
SNYC	8.875	4.824	1.687	0.641	0.751	8	100
HBCX	7.250	3.850	1.498	0.464	0.701	8	100
NXTX	4.125	1.881	0.766	0.354	0.414	8	100
HNLB	5.625	3.020	1.160	0.391	0.571	8	100
HNXZ	7.375	3.995	1.495	0.594	0.692	8	100
平均值 Mean	7.563	4.214	1.489	0.540	0.676	8	100

Na: 等位基因数 Number of alleles; *Ne*: 有效等位基因数 Effective number of alleles; *I*: Shannon's 指数 Shannon's index; *Ho*: 观察杂合度 Observed heterozygosity; *He*: 期望杂合度 Expected heterozygosity; *N*: 多态性位点数 Number of polymorphic loci; *P*: 多态性位点百分比 Percentage of polymorphic loci. 种群代码见表 1。For population codes, see Table 1.

2.5 枣食芽象甲不同地理种群的遗传分化和基因流分析

枣食芽象甲各种群在 8 个微卫星位点上的 *F*-统计量分析结果如表 7 所示,种群间遗传分化系数(*Fst*)为 0.073 ~ 0.218,平均值为 0.151;基因流(*Nm*)为 0.896 ~ 3.168,平均值为 1.594。

表 7 枣食芽象甲地理种群中 8 个 SSR 位点的 *F*-统计量分析
Table 7 *F*-statistics analysis at eight SSR loci among populations of *Scythropus yasumatsui*

位点 Loci	*Fis*	*Fit*	*Fst*	*Nm*
SyL20	0.491	0.602	0.218	0.896
SyL06	0.455	0.520	0.121	1.824
SyL14	0.083	0.233	0.163	1.282
SyL13	0.119	0.184	0.073	3.168
SyL15	0.076	0.238	0.176	1.174
SyL08	0.089	0.263	0.191	1.056
SyL16	0.220	0.339	0.152	1.398
SyL04	0.138	0.238	0.116	1.902
平均值 Mean	0.212	0.329	0.151	1.594

Fis: 种群内近交系数 Inbreeding coefficient within populations; *Fit*: 种群总近交系数 Overall inbreeding coefficient; *Fst*: 种群间遗传分化系数 Genetic differentiation coefficient among populations; *Nm*: 基因流 Gene flow. 种群代码见表 1。For population codes, see Table 1.

枣食芽象甲不同地理种群间的遗传分化系数 *Fst* 和基因流 *Nm* 矩阵见表 8。山西柳林(SXLL)、山西永和(SXYH)、陕西神木(SNSM)和陕西佳县(SNJX)这 4 个种群间的遗传分化系数较低,都小于 0.06,基因流都大于 4。宁夏同心(NXTX)种群和除陕西阎良(SNYL)种群外的其他种群之间的遗传分化系数都大于 0.20,基因流都小于 1。

2.6 枣食芽象甲种群间遗传分化与地理距离的相关性分析

利用 TFPGA 软件的 Mantel 检验对枣食芽象甲不同地理种群之间的遗传分化系数[*Fst*/(1 - *Fst*)]值(*Y*)和地理距离 ln 值(*X*)的相关性进行分析,得出两者之间的回归方程为: $Y = 0.0869X - 0.3202$, 相关系数 $r = 0.596$ ($P = 0.0035 < 0.01$)(图 1)。结果表明我国枣食芽象甲地理种群间的遗传分化系数与地理距离之间呈显著正相关关系。

2.7 枣食芽象甲不同地理种群的系统进化分析

基于 Nei's 遗传距离和 Cavalli-Sforza & Edwards 余弦遗传距离构建的不同地理种群间的 UPGMA 系统进化树如图 2(A, B)所示,以遗传距离 0.5 为阈值,基于两种遗传距离构建的系统进化树都将 10 个地理种群聚为 3 个分支:山西柳林(SXLL)、山西永和(SXYH)、陕西神木(SNSM)、陕西佳县(SNJX)和

陕西延川(SNYC)这5个种群遗传距离较小,聚为1支;陕西阎良(SNYL)、河南灵宝(HNLB)和宁夏同心(NXTX) 3个种群聚为1支;而河南新郑(HNXZ)和河北沧县(HBCX)2个种群聚为1支。

基于上述两种遗传距离构建的不同地理种群间的NJ系统进化树如图3(A, B)所示,结果与UPGMA系统进化树基本一致。10个地理种群也聚为3个分支,仅3个分支的聚类顺序与UPGMA树略有不同,每个分支包括的地理种群与UPGMA树完全相同(图2)。

表8　枣食芽象甲种群间遗传分化系数 *Fst*(下三角)与基因流 *Nm* (上三角)矩阵

Table 8　Matrixs of genetic differentiation *Fst* (below diagonal) and gene flow *Nm* (above diagonal) among populations of *Scythropus yasumatsui*

种群代码 Population code	SXLL	SXYH	SNSM	SNJX	SNYL	SNYC	HBCX	NXTX	HNLB	HNXZ
SXLL		6.633	4.851	5.104	1.599	4.328	2.030	0.739	1.321	1.558
SXYH	0.036		4.141	5.518	1.781	9.310	2.557	0.673	1.379	1.529
SNSM	0.049	0.057		6.601	2.443	3.061	1.836	0.931	1.282	1.304
SNJX	0.047	0.043	0.036		2.012	3.202	2.512	0.912	1.192	1.830
SNYL	0.135	0.123	0.093	0.111		1.519	1.468	1.427	1.889	0.918
SNYC	0.055	0.026	0.076	0.072	0.141		1.951	0.636	1.271	1.323
HBCX	0.110	0.089	0.120	0.091	0.146	0.114		0.681	1.022	2.495
NXTX	0.253	0.271	0.212	0.215	0.149	0.282	0.269		0.737	0.520
HNLB	0.159	0.153	0.163	0.173	0.117	0.164	0.196	0.253		0.743
HNXZ	0.138	0.141	0.161	0.120	0.214	0.159	0.091	0.325	0.252	

种群代码见表1。For population codes, see Table 1.

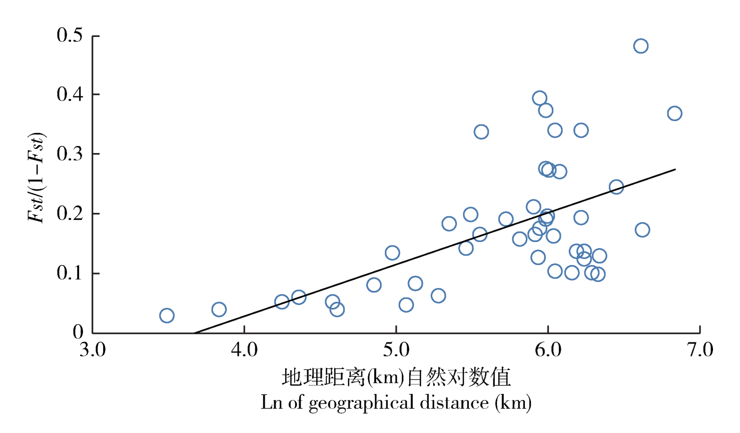


图1　枣食芽象甲地理种群间遗传分化系数与地理距离(km)的自然对数(ln)值之间的相关性散点图

Fig. 1　Scatter plots of values of the genetic differentiation index and the natural logarithm (ln) of the geographic distance in kilometers for populations of *Scythropus yasumatsui*

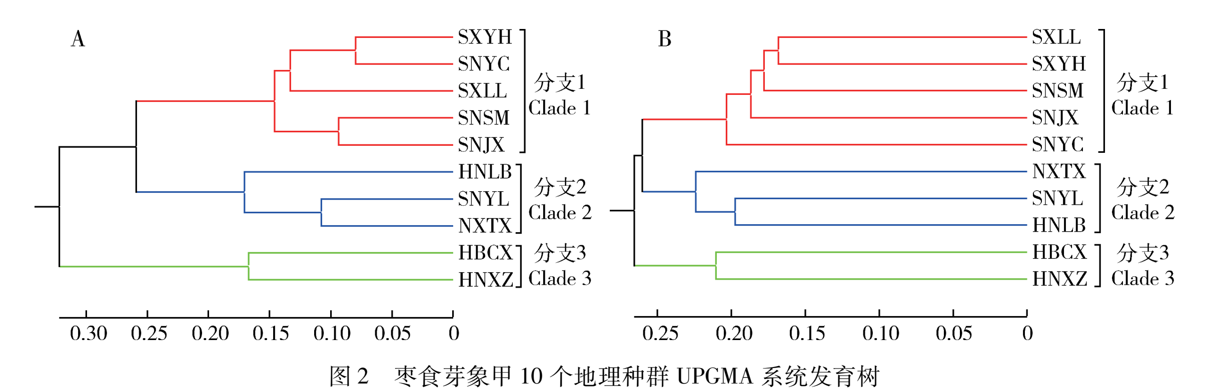


图2　枣食芽象甲10个地理种群UPGMA系统发育树

Fig. 2　UPGMA phylogenetic trees for ten populations of *Scythropus yasumatsui*

A: 基于Nei's遗传距离 Based on Nei's genetic distance; B: 基于余弦遗传距离 Based on Cavalli-Sforza & Edwards genetic distance. 种群代码见表1。For population codes, see Table 1.

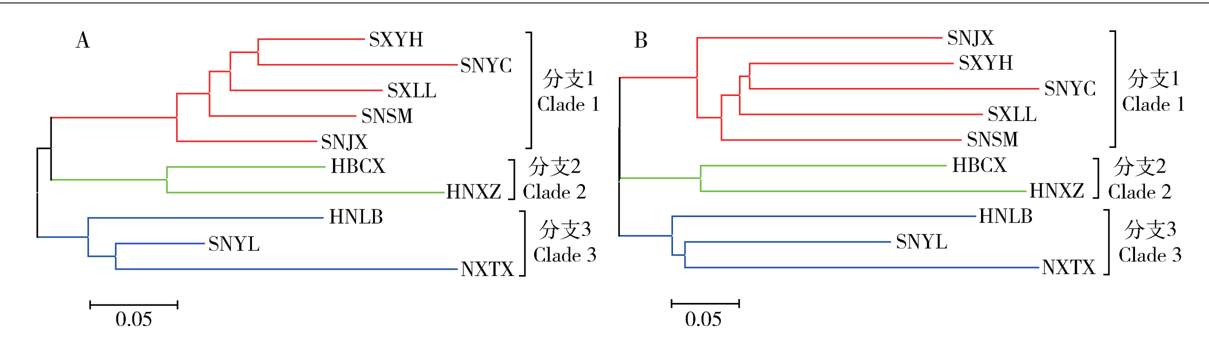


图 3 枣食芽象甲 10 个地理种群 NJ 系统发育树

Fig. 3 NJ phylogenetic trees for ten populations of *Scythropus yasumatsui*

A：基于 Nei's 遗传距离 Based on Nei's genetic distance；B：基于余弦遗传距离 Based on Cavalli-Sforza & Edwards genetic distance. 种群代码见表 1。For population codes, see Table 1.

3 讨论

本研究利用枣食芽象甲转录组数据设计引物，经过 PAGE 电泳、T 载体连接转化和毛细管电泳筛选，最终开发出 8 个具有高度多态性的微卫星位点用于枣食芽象甲的种群遗传多样性研究，证明基于转录组数据挖掘非模式生物的 SSR 分子标记具有成本低、时间短、效率高等优点，发展前景广阔（魏丹丹等，2014），也为国内象甲科昆虫微卫星位点的开发提供了有利资源。同时，转录组中筛选出的微卫星位点也存在多态性不高及可能出现非选择中性等缺点，因此在位点开发过程中需要不断验证其可靠性和有效性。

本研究筛选的 8 个 SSR 位点都存在无效等位基因，可能是由于微卫星侧翼序列变异或大片段等位基因缺失等原因引起，这在陕西阎良及宁夏同心种群少量几个样本的基因分型检测失败中也得到了验证。无效等位基因频率在 0.041 ~ 0.196 之间，都低于 0.2，对种群遗传数据分析的准确性影响较小，因此可用于种群遗传多样性的分析（Chapuis *et al.*, 2005；Chapuis and Estoup, 2007）。通过正合检验得出枣食芽象甲 10 个地理种群均偏离 Hardy-Weinberg 平衡，表现为杂合子缺失，说明各种群内都存在一定的近交现象，这与段辛乐（2015）和李梅梅等（2018）的研究结果相同。8 个 SSR 位点的所有种群成对位点比较没有出现连锁不平衡的情况，说明这些位点在枣食芽象甲基因组中均匀分布，为完全独立遗传，因此不需将各位点在单个种群中再进行成对比较（Stich *et al.*, 2007）。

各位点的有效等位基因数（*Ne*）为 2.113 ~ 8.016，观察杂合度（*Ho*）为 0.238 ~ 0.746，期望杂合度（*He*）为 0.476 ~ 0.865，说明枣食芽象甲种群总体的遗传多样性较高。在本研究中，无论从各个位点还是各个种群进行统计，有效等位基因数（*Ne*）均低于等位基因数（*Na*），且各位点和各种群的观察杂合度（*Ho*）均低于期望杂合度（*He*），说明枣食芽象甲的基因型中杂合子缺失，种群内存在近交现象。在 10 个地理种群中，山西柳林种群的遗传多样性最高，宁夏同心种群最低，其他种群的遗传多样性居中，表明由于地理环境的差异，不同地理种群间的遗传多样性程度分化明显（任勤等，2018）。各位点的多态信息含量（*PIC*）为 0.561 ~ 0.908，都在 0.5 以上，均为高度多态性位点（Botstein *et al.*, 1980），同时各种群的多态位点百分率平均为 100%，Shannon's 指数（*I*）平均值为 1.489，表明本研究所用的 8 个微卫星位点能够提供较多的遗传信息，可作为有效的遗传标记用于枣食芽象甲地理种群间遗传多样性的分析。

本研究得到种群间的 *Fst* 平均值为 0.151 > 0.15，表明枣食芽象甲 15.10% 的遗传变异存在于各种群之间，84.90% 的遗传变异存在于种群内个体之间，枣食芽象甲地理种群间总体存在高度的遗传分化。基因流是影响种群间遗传分化的一个重要因素，本研究中各位点的基因流均值为 1.594 > 1，表明我国不同枣食芽象甲地理种群之间总体存在一定的基因交流（Slatkin, 1985）。在 10 个地理种群中，陕西的佳县、神木种群与山西的柳林、永和种群地理位置均靠近黄河沿岸且被黄河隔开，这 4 个种群间相互的 *Fst* 值均小于 0.06，且 *Nm* 值均大于 4（表 8），表明河流的阻隔作用没有造成种群间的遗传分化，分析原因可能是枣食芽象甲成虫具有较弱的飞翔能力（刘光生，1991），可借助气流进行一定距离的传播，从而使近距离种群间保持频繁的基因交流。

同时，枣食芽象甲地理种群间的遗传分化与地理距离之间显著正相关，表明枣食芽象甲成虫不能远距离迁飞进行基因交流，地理距离超过 300 km 的种群间仍然存在较高的遗传分化（表 8，图 1）。

本研究基于 2 种遗传距离的 UPGMA 和 NJ 系统进化树将 10 个地理种群均聚为 3 个相同的分支：陕西佳县、神木和延川及山西柳林和永和 5 个种群聚为 1 支（分支 1），该支处于黄河沿岸的黄土高原地区，海拔在 600 ~ 1 000 m 左右；河南新郑和河北沧县种群聚为 1 支（分支 2），该支处于华北平原，海拔在 200 m 以下；河南灵宝、陕西阎良和宁夏同心聚为 1 支（分支 3），河南灵宝和陕西阎良地区位于华北平原到关中平原过渡区，海拔 300 m 以上，而宁夏同心位于高原地带，海拔 1 300 m 以上。从地理环境来看，除分支 3 中宁夏同心与河南灵宝和陕西阎良种群环境条件差异较大外，其他两个分支所在地区的气候、海拔等条件都比较类似。从地理隔离来看，分支 1 和分支 2 受到太行山脉阻隔，而分支 1 和分支 3 受到黄土高原阻隔，各分支间存在明显的地理隔离。结合 3 个分支间较高的遗传分化程度（表 8），证明了地理环境和隔离是影响地理种群遗传分化和基因交流的重要因素。

综上所述，本研究结果说明，枣食芽象甲在我国的种群遗传多样性较高，不同地理种群间存在高度的遗传分化，且有一定的基因交流。种群遗传多样性研究能够阐明地理隔离、气候条件、防治措施等因素对昆虫不同种群间的遗传分化、基因交流等产生的影响（Kirk *et al.*, 2013；郑燕等，2014），为进一步开展枣食芽象甲种群遗传结构、种群扩散路径和物种溯源等方面的研究奠定基础，最终制定出该虫的综合防治策略，用于指导生产实践。

参考文献（References）

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.*, 32(3): 314 – 331.

Chapuis MP, Estoup A, 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.*, 24(3): 621 – 631.

Chapuis MP, Loiseau A, Michalakis Y, Lecoq M, Estoup A, 2005. Characterization and PCR multiplexing of polymorphic microsatellite loci for the locust *Locusta migratoria*. *Mol. Ecol. Notes*, 5(3): 554 – 557.

Dieringer D, Schlötterer C, 2003. MICROSATELLITE ANALYSER (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol. Ecol. Notes*, 3(1): 167 – 169.

Du XD, 2007. Biological characteristics and control of *Scythropus yasumatsui*. *Shanxi Fruits*, (2): 43. ［杜仙当，2007. 枣飞象生物学特性及防治. 山西果树，(2)：43］

Duan XL, 2015. Genetic Diversity and Genetic Structure of Bird Cherry-oat Aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) in China and Inductive Effect of Pesticide. PhD Dissertation, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi. ［段辛乐，2015. 我国禾谷缢管蚜种群遗传多样性和遗传结构及农药对其胁迫效应研究. 陕西杨凌：西北农林科技大学博士学位论文］

Excoffier L, Lischer HEL, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.*, 10(3): 564 – 567.

Fang B, Duan XL, Zhang YL, Yang ZQ, Chen MH, 2017. Microsatellite development and genetic diversity analysis of apple buprestid *Agrilus mali* Matsumura. *Acta Phytophy. Sin.*, 44(4): 559 – 566. ［房冰，段辛乐，张彦龙，杨忠岐，陈茂华，2017. 苹果小吉丁虫微卫星开发及其种群遗传结构分析. 植物保护学报，44(4)：559 – 566］

Gao LN, Wang LX, Yang YQ, Gao GY, 1977. Preliminary investigation of *Scythropus yasumatsui*. *For. Sci. Technol.*, (8): 18. ［高犁牛，王来喜，杨有乾，高冠玉，1977. 枣飞象的初步调查研究. 林业科技通讯，(8)：18］

Glaubitz JC, 2004. Convert: a user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Mol. Ecol. Notes*, 4(2): 309 – 310.

Guzmán N, Contrerasdíaz H, Lanteri A, Juan C, Confalonieri V, 2013. Isolation and characterization of microsatellite loci in the fruit tree weevil *Naupactus xanthographus* (Coleoptera: Curculionidae): cross-amplification in related species of the *Naupactus-Pantomorus* complex. *J. Genet.*, 89: e23 – e27.

Hong B, Zhang F, Li YM, Zhang SL, Chen ZJ, 2017. Spatial distribution of *Scythropus yasumatsui* Kono *et* Morimoto adults in jujube orchard of Northern Shaanxi. *Plant Prot.*, 43(6): 113 – 117, 122. ［洪波，张锋，李英梅，张淑莲，陈志杰，2017. 食芽象甲成虫在陕北枣园的空间分布格局. 植物保护，43(6)：113 – 117，122］

Hu WP, Liang TK, 2008. Forecast and control of *Scythropus yasumatsui*. *Shanxi Agric.*, (1): 41. ［胡维平，梁廷康，2008. 枣飞象的预测预报及防治. 山西农业，(1)：41］

Huang WZ, Li DC, 1993. Spatial distribution pattern of overwintering larvae of *Scythropus yasumatsui*. *Entomol. Knowl.*, 30(6): 348 – 350. ［黄维正，李东成，1993. 枣飞象越冬幼虫空间分布格局的研究. 昆虫知识，30(6)：348 – 350］

Jarne P, Lagoda PJL, 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.*, 11(10): 424 – 429.

Jia ZB, Liu QX, Liu HY, 1991. Preliminary observation on life habit and control of *Scythropus yasumatsui*. *J. Gansu For. Sci. Technol.*, (2): 49 – 50. ［贾增波，刘启雄，刘鸿源，1991. 枣芽象甲生活习性初步观察及其防治. 甘肃林业科技，(2)：49 – 50］

Kirk H, Dorn S, Mazzi D, 2013. Molecular genetics and genomics generate new insights into invertebrate pest invasions. *Evol. Appl.*, 6(5): 842 – 856.

Li MM, Li BL, Wu JX, Xu XL, 2018. Screening of microsatellite loci

and the genetic diversity analysis of *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in China. *Acta Entomol. Sin.*, 61(6): 712–719. [李梅梅, 李伯辽, 仵均祥, 许向利, 2018. 我国粘虫种群的微卫星位点筛选及遗传多样性分析. 昆虫学报, 61(6): 712–719]

Li WA, Zhao P, Wang PX, 2007. The disease and pests of jujube and their control strategies in Shaanxi Province. *J. Northwest For. Univ.*, 22(5): 120–123. [李文爱, 赵鹏, 王培新, 2007. 陕西枣树主要病虫害及防治对策研究. 西北林学院学报, 22(5): 120–123]

Li WF, Yang L, Tang K, Zeng L, Liang GW, 2007. Microsatellite polymorphism of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) populations in China. *Acta Entomol. Sin.*, 50(12): 1255–1262. [李伟丰, 杨朗, 唐侃, 曾玲, 梁广文, 2007. 中国桔小实蝇种群的微卫星多态性分析. 昆虫学报, 50(12): 1255–1262]

Liu GS, 1991. The life habit and control of *Scythropus yasumatsui*. *Shanxi For. Sci. Technol.*, (3): 49. [刘光生, 1991. 枣飞象生活习性及防治. 山西林业科技, (3): 49]

Men QL, Chen MH, Zhang YL, Feng JN, 2012. Amplifying stability and genetic diversity of microsatellite loci in codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) populations in China. *Acta Phytophy. Sin.*, 39(4): 341–346. [门秋雷, 陈茂华, 张雅林, 冯纪年, 2012. 中国疫区内苹果蠹蛾微卫星位点的扩增稳定性及遗传多样性. 植物保护学报, 39(4): 341–346]

Miller MP, 1997. Tools for Population Genetic Analysis (TFPGA), Version 1.3: a Windows® program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ.

Nei M, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3): 583–590.

Powell W, Machray GC, Provan J, 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci.*, 1(7): 215–222.

Ren Q, Cao LF, Zhao HX, Wang RS, Cheng S, Luo WH, Cao L, Ji CH, 2018. Analysis of genetic diversity of main *Apis cerana* populations in China. *J. Henan Agric. Univ.*, 52(1): 91–95. [任勤, 曹联飞, 赵红霞, 王瑞生, 程尚, 罗文华, 曹兰, 姬聪慧, 2018. 中国主要东方蜜蜂种群的遗传多样性分析. 河南农业大学学报, 52(1): 91–95]

Rousset F, 2008. GENEPOP 007: a complete reimplementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resour.*, 8(1): 103–106.

Schuelke M, 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nat. Biotechnol.*, 18(2): 233–234.

Slatkin M, 1985. Gene flow in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 16: 393–430.

Stich B, Melchinger AE, Piepho HP, Hamrit S, Schipprack W, Maurer HP, Reif JC, 2007. Potential cause of linkage disequilibrium in a European maize breeding program investigated with computer simulations. *Theor. Appl. Genet.*, 115(4): 529–536.

Tang XL, Zhao HZ, Zhang XW, 2013. Techniques for the control of *Scythropus yasumatsui* in the northern Shaanxi. *Shaanxi For. Sci. Technol.*, (4): 131–132. [唐学亮, 赵宏志, 张学武, 2013. 陕北枣树食芽象甲防治技术研究. 陕西林业科技, (4): 131–132]

Wang J, 2016. The occurrence and life habit of *Scythropus yasumatsui*. *Prot. For. Sci. Technol.*, (9): 90, 112. [王晶, 2016. 枣树食芽象甲生活习性与发生规律研究. 防护林科技, (9): 90, 112]

Wang JL, Hong B, Chen ZJ, Lian ZM, Zhang SL, Li YM, Zhang F, 2017. The olfactory response of *Scythropus yasumatsui* to volatiles of different jujube cultivars. *J. Environ. Entomol.*, 39(6): 1273–1280. [王晶玲, 洪波, 陈志杰, 廉振民, 张淑莲, 李英梅, 张锋, 2017. 食芽象甲对不同品种枣树植物挥发物的嗅觉反应. 环境昆虫学报, 39(6): 1273–1280]

Wang YY, Zhang ZY, Zhang LB, Wang LH, 2011. The occurrence and control of *Scythropus yasumatsui*. *Modern Rural Sci. Technol.*, (2): 20. [王妍妍, 张泽勇, 张立宝, 王丽红, 2011. 枣树食芽象甲发生规律与防治技术. 现代农村科技, (2): 20]

Wei DD, Shi JX, Zhang XX, Chen SC, Wei D, Wang JJ, 2014. Analysis of microsatellite loci from *Bactrocera dorsalis* based on transcriptome dataset. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 25(6): 1799–1805. [魏丹丹, 石俊霞, 张夏瑄, 陈世春, 魏冬, 王进军, 2014. 基于转录组数据的桔小实蝇微卫星位点信息分析. 应用生态学报, 25(6): 1799–1805]

Wright S, 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics*, 15: 323–354.

Yan XF, Li SC, 2012. The behavior responses of *Scythropus yasunatsui* to volatiles emanating from different cultivars of jujube trees. *Chin. Agric. Sci. Bull.*, 28(22): 197–200. [阎雄飞, 李善才, 2012. 枣食芽象甲对不同品种枣树挥发物气味行为反应. 中国农学通报, 28(22): 197–200]

Zhang HP, Shen RQ, Kang PZ, 2015. The damage and risk analysis of *Scythropus yasumatsui* in jujube orchards in Ningxia. *China Fruits*, (2): 80–82. [张华普, 沈瑞清, 康萍芝, 2015. 食芽象甲在宁夏枣园的发生危害及风险分析. 中国果树, (2): 80–82]

Zhang ZY, Yan CY, 2011. The occurrence and control of *Scythropus yasumatsui* in Xianxian, Hebei Province. *Pract. Technol. Inform. Fruits*, (2): 35. [张泽勇, 闫春艳, 2011. 枣树食芽象甲在河北献县的发生规律与防治技术. 果树实用技术与信息, (2): 35]

Zheng Y, Wang K, Li YT, Qiao XF, Chen MH, 2014. Amplication stability and polymorphism of microsatellite loci in the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) in China. *Acta Entomol. Sin.*, 57(11): 1335–1342. [郑燕, 王康, 李玉婷, 乔宪凤, 陈茂华, 2014. 梨小食心虫微卫星标记的扩增稳定性及多态性分析. 昆虫学报, 57(11): 1335–1342]

（责任编辑：马丽萍）